

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKABONASI
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

Oleh

FADILA RAHAYU



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKABONASI
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR *Sprague dawley***

Oleh

FADILA RAHAYU

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **Pengaruh Pemberian Minuman Ringan
Berkabonasi Terhadap Gambaran
Histopatologi Esofagus Tikus Putih
(*Rattus norvegicus*) Jantan Galur
*Sprague dawley***

Nama Mahasiswa : **FADILA RAHAYU**

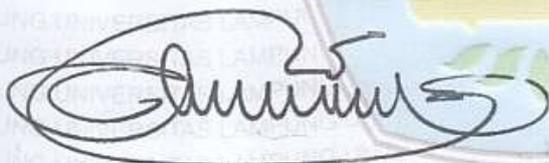
Nomor Pokok Mahasiswa : 1518011034

Program Studi : Pendidikan Dokter

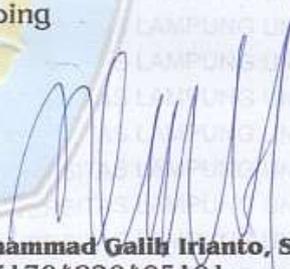
Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

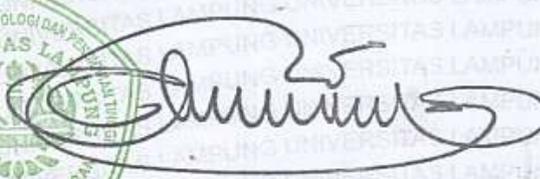


Dr. dr. Muhartono, S. Ked, M. Kes, Sp. PA
NIP.197012082001121001



dr. Muhammad Galih Irianto, S. Ked, Sp. F
NIK. 231704820405101

2. Dekan Fakultas Kedokteran




Dr. dr. Muhartono, S. Ked, M. Kes, Sp. PA
NIP.197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes, Sp.PA

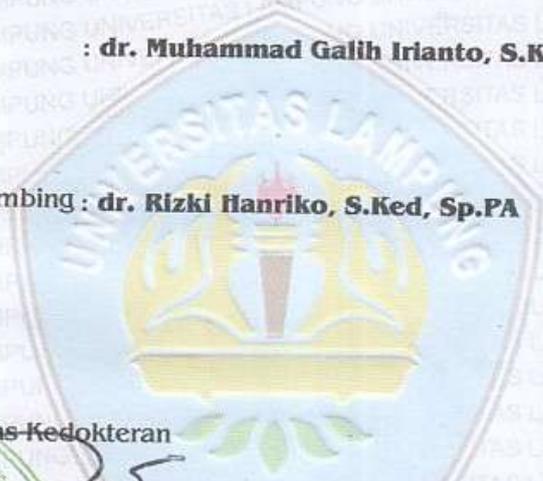
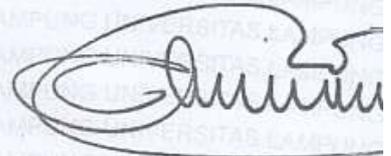
Sekretaris : dr. Muhammad Galih Irianto, S.Ked,Sp. F

**Penguji
Bukan Pembimbing : dr. Rizki Hanriko, S.Ked, Sp.PA**

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes, Sp.PA
NIP.19701208 200112 1 001

Tanggal Ujian Skripsi: 15 Januari 2019



LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKABONASI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandarlampung, Januari 2019

Pembuat Pernyataan



Fadila Rahayu

NPM. 1518011034

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kota Sungai Penuh Provinsi Jambi pada tanggal 19 Agustus 1997, merupakan anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Mansyurdin dan Ibu Rismayati.

Pendidikan penulis diselesaikan di Taman Kanak-kanak (TK) Negeri Pembina Sungai Penuh pada tahun 2003, Sekolah dasar (SD) di SD Negeri 166/ III Koto Renah Sungai Penuh pada tahun 2009. Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 1 Sungai Penuh pada tahun 2012. Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 1 Sungai Penuh pada tahun 2015.

Tahun 2015 penulis diterima di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung lewat jalur undangan SNMPTN. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif pada organisasi Forum Studi Islam (FSI) sebagai Kestari FSI Ibnu Sina 2016-2017.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang

كُتِبَ عَلَيْكُمُ الْقِتَالُ وَهُوَ كُرْهُ لَكُمْ وَعَسَىٰ أَنْ تَكْرَهُوا شَيْئًا وَهُوَ خَيْرٌ لَّكُمْ وَعَسَىٰ أَنْ تُحِبُّوا شَيْئًا وَهُوَ شَرٌّ لَّكُمْ وَاللَّهُ يَعْلَمُ وَأَنْتُمْ لَا تَعْلَمُونَ

“Diwajibkan atas kamu berperang padahal itu tidak menyenangkan bagimu. Namun boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedangkan kamu tidak mengetahui” (QS. Al-Baqarah, 2:216)

**Sebuah persembahan
sederhana untuk Mama,
Papa dan keluarga besar**

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan ridhonya lah penelitian ini bisa berjalan dan terselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam juga tak lupa selalu dicurahkan kepada nabi besar Muhammad SAW.

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi Terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Universitas Lampung dan juga sebagai Pembimbing 1 skripsi saya, terimakasih atas kesediaanya untuk meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, saran, kritik dan nasihat yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
3. dr. Muhammad Galih Irianto, S. Ked, Sp. F selaku Pembimbing 2 skripsi saya, terimakasih atas kesediaanya untuk meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, saran, kritik dan nasihat yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;

4. dr. Rizki Hanriko, S.Ked, Sp.PA selaku Pembahas skripsi saya yang juga bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, kritik, saran dan membatu selama proses pembacaan hasil preparat histopatologi dalam proses penyelesaian skripsi ini;
5. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked, M. Sc selaku Pembimbing Akademik selama di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung terimakasih atas semua motivasi, saran, kritik dan nasihatnya selama menempuh pendidikan dokter;
6. Mama (Rismayati) dan Papa (Masyurdin (Alm)) yang tidak pernah putus mendoakan dan menyemangati, selalu ada, sabar,ikhlas dan memberi kasih sayang, doa, dukungan serta nasihat tanpa henti, semoga Allah SWT selalu melindungi mama dan papa dimanapun berada;
7. Kakak saya Asma Maya Sari (Alm) yang selalu menjadi semangat penulis untuk membahagiakan mama dan papa;
8. Mbak Dina Merisa, Abang Idrusman, Kak Lishelma, Kak Elya Dwita, Kak Rita Zasriyanti, Kak Nevi Nelyanti, Kak Indet Wani, Abang Endang Kurniawan dan keluarga besar yang selalu memberikan doa dan dukungannya dalam menyelesaikan pendidikan dokter ini;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu pengetahuan, dukungan serta nasihat selama penulis menempuh pendidikan dokter;
10. Seluruh staf Tata Usaha, administrasi dan akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah banyak membantu dalam proses penelitian ini;

11. Ibu Nuriyah dan Mas Bayu yang telah banyak membantu dalam proses penelitian ini, untuk semua nasihat dan dukungannya;
12. Sahabat penulis Desri Fitria Sari, Lusi Nanda Putri, Sintia Febriani, Vipin Cenya Putri dan Yolanda Safira yang selalu berbagi keceriaan dan semangat, doa dan dukungan dari jauh yang sangat membantu dalam menyelesaikan skripsi ini;
13. Sahabat penulis Syfa Dinia Putri, Mega Rukmana Dewi, Aliezsia Esthi K, Maya Nurul, Shafa Inayatullah, Puji Indah Permatasari, Nurul Azmy dan Nimade Puspita teman seperjuangan yang menemani sejak awal perkuliahan, selalu ada dan memberikan semangat selama ini;
14. Sahabat penulis Almira Trihantoro Putri, Darnalis Serlina, Ayu Agustira, Meiwa Rizky, Sri Janahtul, Raisah Almira dan Nurul Fitri Insani yang saling memberikan semangat dan dukungan selama ini;
15. Teman seperantauan Kak Indah, Kak Ara, Nadila, Reginda, Ratih, Sri Janahtul, Astrid dan keluarga besar Himpunan Mahasiswa Jambi (HIMAJA) atas kebersamaan, suka duka, doa dan dukungan selama penulis menempuh pendidikan dokter;
16. Teman seperjuangan dalam penelitian ini Nikom dan Wulan yang telah berbagi suka dan duka, terimakasih atas kerjasama yang membuat penelitian ini menjadi kenangan yang tidak dapat dilupakan. Tim Seperbimbingan Reihansyah dan Jokowi yang sudah membantu proses penelitian;
17. Teman seperjuangan penulis yaitu keluarga besar BNA dan Waspaddict yang tidak bisa disebutkan satu per satu. Terimakasih atas kebersamaan, dukungan

dan semangat walaupun sedang berjuang di studi masing-masing sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;

18. Seluruh keluarga besar penelitian pertikusan yang telah berjuang bersama menaklukan tikus-tikus, berbagi suka dan duka selama penelitian;

19. Seluruh rekan sejawat ENDOMISIUM 2015 yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terimakasih atas semua kebersamaan, doa, semangat dan kerjanya selama ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan namun semoga skripsi ini bisa berguna dan bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Bandarlampung, Januari 2019

Penulis,

Fadila Rahayu

ABSTRACT

THE EFFECT OF CARBONATED SOFT DRINKS CONSUMPTION ON ESOPHAGUS HISTOPATHOLOGY CHANGES OF MALE *Sprague dawley* WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

FADILA RAHAYU

Background: A carbonated soft drink is a drink that appears bubbling as a result of injection of carbon dioxide into the drink. Direct irritation of acidity and carbon dioxide gas content in a carbonated soft drink can cause epithelial changes in rats because the epithelium in the esophagus is alkaline and does not resist acid.

Objective: The aim this research is to determine the effect of carbonated soft drinks consumption on esophagus histopathology changes of male *Sprague dawley* white rats (*Rattus norvegicus*).

Methods: This research is an experimental research with post test only control group design using 24 rats were divided randomly into 4 groups and treated for 30 days. K as control group, P1 (given 3 ml/day), P2 (given 6 ml/day) and P3 (given 12 ml/day). At the end of the study rats were terminated and their esophagus was taken for histological preparations with hematoxylin eosin staining.

Result: The mean results of esophageal histopathology damage in group K: 0.1, P1: 0.67, P2: 0.83 and P3: 1.03. p result in *Kruskal-Wallis* test is 0,001 ($p < 0.05$). The results showed significant differences ($p < 0.05$) in groups K-P1 ($p = 0,003$), K-P2 ($p = 0,003$), K-P3 ($p = 0,003$), P1-P3 ($p = 0,007$) and P2-P3 ($p = 0,051$).

Conclusion: There is an effect of carbonated soft drinks consumption on esophagus histopathology changes of male *Sprague dawley* white rats (*Rattus norvegicus*)

Keywords: Carbonated soft drinks, esophagus, histopathology, white rats

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKABONASI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*

Oleh

FADILA RAHAYU

Latar Belakang: Minuman ringan berkarbonasi atau minuman berkarbonasi merupakan minuman yang tampak bergelembung akibat dari injeksi gas karbondioksida ke dalam minuman tersebut. Iritasi secara langsung dari keasaman dan kandungan gas karbondioksida yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi dapat mengakibatkan perubahan epitel pada tikus karena epitel pada esofagus bersifat alkali dan tidak tahan asam.

Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post test only control group* menggunakan 24 ekor tikus dibagi 4 kelompok secara acak diberi perlakuan selama 30 hari. Kelompok K (Kontrol), P1 (diberi 3 ml/hari), P2 (diberi 6 ml/hari) dan P3 (diberi 12 ml/hari). Pada akhir penelitian tikus dilakukan terminasi dan diambil esofagusnya untuk pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin.

Hasil: Hasil rerata kerusakan histopatologi esofagus pada kelompok K: 0.1, P1: 0.67, P2: 0.83 dan P3: 1.03. Dengan hasil p pada analisis *Kruskal-Wallis* adalah 0,001 ($p < 0,05$). Pada penelitian menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok K-P1 ($p = 0,003$), K-P2 ($p = 0,003$), K-P3 ($p = 0,003$), P1-P3 ($p = 0,007$) dan P2-P3 ($p = 0,051$).

Simpulan: Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Kata kunci : minuman ringan berkarbonasi, esofagus, histopatologi, tikus putih.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Minuman Ringan Berkabonasi	7
2.2 Esofagus.....	10
2.2. 1 Anatomi Esofagus.....	10
2.2.2 Fisiologi Esofagus	12
2.2.3 Histologi Esofagus.....	14
2.3 Proses Kerusakan Esofagus Akibat Konsumsi Minuman Ringan Berkabonasi	16
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	19
2.5 Kerangka Teori	21
2.6 Kerangka Konsep.....	24
2.7 Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
3. 1 Desain penelitian	25

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2.1 Tempat.....	25
3.2.3 Waktu.....	26
3.3. Populasi dan Sampel.....	26
3.3.1 Populasi Penelitian	26
3.3.2 Sampel Penelitian	26
3.3.3 Kriteria Inklusi.....	28
3.3.4 Kriteria Eksklusi	29
3.4. Alat dan Bahan Penelitian	29
3.4.1 Alat Penelitian	29
3.4.2 Bahan penelitian	29
3.4.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histologi.....	30
3.4.4 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi	30
3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel.....	31
3.5.1 Identifikasi Variabel	31
3.5.2 Definisi Operasional Variabel	31
3.6 Prosedur Penelitian	33
3.6. 1 Pemilihan Minuman Ringan Berkabonasi.....	33
3.6.2 Perhitungan Dosis.....	34
3.6.3 Adaptasi Hewan Percobaan	35
3.6.4 Pemberian Minuman Ringan Berkabonasi Tikus.....	35
3.6.5 Prosedur Operasional Pembuatan Preprat	36
3.6. 6 Alur Penelitian.....	40
3.7 Analisis Data.....	42
3.8 <i>Ethical Clearance</i>	43
BAB 1V PEMBAHASAN	44
4.1 Hasil Penelitian.....	44
4.1.1 Gambaran Histopatologi Esofagus Tikus	44
A.Kelompok Kontrol (K)	44
B.Kelompok Perlakuan 1 (P1).....	45
C.Kelompok Perlakuan 2 (P2).....	46
D.Kelompok Perlakuan 3 (P3).....	47
4.1.2 Tingkat Kerusakan Esofagus Tikus.....	48
4.1.3 Analisis Data.....	50

4.2 Pembahasan	51
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	58
5.1 Simpulan.....	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Ciri- Ciri Morfologi dari <i>Rattus norvegicus</i>	20
2. Perkembangbiakan dari <i>Rattus norvegicus</i>	21
3. Rerata Skor Kerusakan Esofagus.....	49
4. Analisis <i>Post Hoc Mann Whitney</i> antar kelompok	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Esofagus	11
2. Potongan Longitudinal Esofagus Bagian Atas.....	14
3. Histologi Esofagus	15
4. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague dawley</i>	20
5. Kerangka Teori.....	23
6. Kerangka Konsep	24
7. Alur Penelitian	41
8. Histopatologi Esofagus Kelompok Kontrol (Pembesaran 400x).....	45
9. Histopatologi Esofagus Kelompok Perlakuan 1 (Pembesaran 400x).	46
10. Histopatologi Esofagus Kelompok Perlakuan 2 (Pembesaran 400x).	47
11. Histopatologi Esofagus Kelompok Perlakuan 3 (Pembesaran 400x).	48
12. Esofagus Normal Tikus. Pembesaran 400x	55
13. Esofagus Normal Tikus.....	55
14. Perbandingan Struktur Histologi Esofagus Normal Tikus dan Manusia	56

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan zaman, terjadi perubahan gaya hidup disertai dengan perubahan pola makan dan minuman pada penduduk dunia terutama remaja. Remaja memiliki karakteristik selalu ingin mencoba sesuatu yang baru, berdasarkan karakteristik tersebut para produsen makanan dan minuman terinspirasi untuk membuat makanan dan minuman yang praktis dan menyegarkan contohnya minuman ringan berkarbonasi (Meiriasari & Mulyani, 2013).

Minuman berkarbonasi sering juga diartikan sebagai minuman ringan. Memiliki penampilan yang bergelembung yang memberi kesan segar pada minuman ringan berkarbonasi disebabkan oleh proses penginjeksian gas-gas CO₂ (Karbondioksida) ke dalam minuman yang disebut karbonasi. Gelembung-gelembung CO₂ tersebut juga memberi efek kepuasan yang sangat khas yaitu rasa menggigit di lidah apabila di konsumsi (Fikawati *et al.*, 2017).

Minuman ringan berkarbonasi merebak ke seluruh dunia termasuk Indonesia sehingga menyebabkan dampak negatif muncul contohnya penyakit degeneratif seperti diabetes, stroke dan penyakit esofagus. Terjadi peningkatan konsumsi minuman ringan berkarbonasi yang sangat tajam sejak ditemukannya minuman ringan berkarbonasi oleh Amerika Serikat pada tahun 1830. Pada tahun 1986, sekitar 28 galon minuman ringan berkarbonasi di konsumsi perkapita/tahun, lalu pada tahun 1997 meningkat menjadi 41 galon pertahun. Minuman ini bahkan aktif di konsumsi 74% oleh anak-anak/remaja laki-laki dan 64% oleh anak-anak/remaja perempuan (Tania, 2016).

Berdasarkan hasil studi diet total Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, didapatkan tingkat konsumsi minuman ringan berkarbonasi di Indonesia cukup tinggi. Rata-rata orang Indonesia mengonsumsi minuman selain air putih mencapai 25,0 gram perhari. Minuman kedua yang paling banyak dikonsumsi oleh orang Indonesia merupakan minuman ringan berkarbonasi. Dari total jumlah penduduk Indonesia 1,1% atau sekitar 2,7 juta penduduk rerata mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi sebanyak 2,4 gram perhari (Wahyuni *et al.*, 2017).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh *nusaresearch team* mengenai kebiasaan orang Indonesia dalam mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi didapatkan bahwa 30,7% dari responden mengatakan setidaknya 2-3 kali mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi dalam seminggu dan 18,5% responden mengatakan mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi lebih dari 3 kali dalam seminggu dan minuman ringan berkarbonasi yang paling banyak

dikonsumsi oleh responden terdiri dari Coca cola (99,4%), Fanta (98,7%) dan Sprite (97,5%) (Nusaresearch team, 2014).

Terdapat komponen khas minuman berkarbonasi atau minuman ringan berkarbonasi yang terdiri dari tiga unsur utama, yaitu karbondioksida yang dilarutkan dalam cairan, pemanis buatan dan zat pewarna. Perbedaan khas antara minuman berkarbonasi dengan minuman lain terletak pada adanya karbondioksida yang terlarut, karena karbondioksida dinilai memiliki efek terhadap kesehatan manusia (Giriwono *et al.*, 2014).

Secara alami karbondioksida berada di tubuh sebagai produk sisa respirasi dari semua sel. Namun hanya karbondioksida yang terlarut yang akan mencapai tahap akhir dalam saluran pencernaan setelah di konsumsi karena sebagian besar karbondioksida akan hilang saat membuka wadah minuman. Konsentrasi karbondioksida yang tersisa akan terus menuju lambung yang dapat mengaktifkan peristaltik usus dan induksi cairan isi lambung mengalir kembali ke esofagus, kondisi ini dapat dilihat pada orang yang mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi dalam jumlah banyak (Cuomo *et al.*, 2009).

Hal itu dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Kapicioglu *et al* yang bertujuan untuk menganalisis interaksi antara konsumsi minuman ringan berkarbonasi dan garam terhadap esofagitis dengan menggunakan sampel 20 ekor tikus. Kelompok 10 tikus pertama diberi garam (pH 7) dan kelompok 10 tikus kedua diberi minuman ringan berkarbonasi (pH 2,6) per oral setiap 24 jam. Hasilnya terdapat efek proliferasi pada mukosa esofagus yang disebabkan oleh iritasi mukosa (Kapicioglu *et al.*, 1999).

Penelitian yang dilakukan Wahyuni *et al* melaporkan bahwa pemberian minuman ringan berkarbonasi secara terus menerus dan berlangsung lama pada tikus wistar dapat menyebabkan peradangan serta iritasi pada mukosa esofagus karena kandungan asam dan gas karbondioksida yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi (Wahyuni *et al.*, 2017).

Berdasarkan uraian teori di atas, peneliti tertarik untuk meneliti secara langsung tentang pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi esofagus dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas didapatkan rumusan masalah sebagai berikut :

Apakah terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan frekuensi dosis yang berbeda terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka tujuan dari penelitian yang ingin dicapai yaitu sebagai berikut :

Untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan frekuensi dosis yang berbeda terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian yang dilakukan diharapkan hasil yang dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, bagi peneliti dan juga masyarakat. Adapun manfaat penelitian ini adalah :

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini menjadi pengalaman yang berguna dalam menerapkan disiplin ilmu yang telah dipelajari selama perkuliahan dan dapat menambah pengetahuan mengenai pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan frekuensi berbeda terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Penelitian diharapkan dapat menjadi dasar dan acuan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai informasi mengenai bahaya dari kebiasaan meminum *minuman ringan berkarbonasi*.

1.4.4 Bagi Ilmu Kedokteran

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan bagi institusi pendidikan, guna menambah dan memperkaya pengetahuan mengenai bahaya mengkonsumsi *minuman ringan berkarbonasi* terhadap esofagus.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Ringan Berkabonasi

Secara umum, minuman terbagi menjadi dua yaitu minuman yang tidak terkontaminasi oleh bahan kimia disebut minuman alami, contohnya air putih. Minuman yang terkontaminasi oleh bahan kimia disebut minuman buatan, contohnya minuman ringan. Minuman buatan terdiri dari dua macam yaitu minuman yang mengandung karbondioksida disebut minuman ringan berkarbonasi dan minuman ringan yang tidak mengandung karbondioksida yang disebut minuman ringan tidak berkarbonasi, contohnya minuman ion, minuman isotonik dan teh hijau (Muthmainnah, 2012).

Minuman ringan berkarbonasi atau minuman berkarbonasi merupakan minuman yang tampak bergelembung akibat dari injeksi gas karbondioksida ke dalam minuman tersebut. Minuman ringan berkarbonasi terdiri dari beberapa kandungan sederhana yang terdiri dari air 90%, sisanya kombinasi gas karbondioksida, penguat rasa, zat pewarna, pemanis buatan kafein, sakarin, fruktosa, asam benzoat, asam sorbat, aspartam dan asam fosfat (Fikawati *et al.*, 2017; Berawi, 2017).

Minuman ringan berkarbonasi terdiri dari beberapa komposisi yang terdiri dari bahan tambahan seperti zat pewarna, zat pemanis, gas CO₂, zat pengawet dan sisanya air sebanyak 90%. Komposisi minuman ringan berkarbonasi adalah sebagai berikut :

- A. Air, 90% minuman karbonasi terdiri dari air sedangkan pada minuman diet berkarbonasi terdiri dari 99% air. Untuk mendapatkan kualitas air yang diinginkan, dapat dilakukan beberapa cara antara lain dengan klorinasi, penambahan kapur, koagulasi, sedimentasi, filtrasi pasir, penyaringan dengan karbon aktif dan demineralisasi dengan *ion exchanger* (Kragiel *et al.*, 2015).
- B. Gula dan pemanis buatan, biasanya terdapat 1% sampai 12% gula dalam minuman ringan berkarbonasi. Minuman ringan berkarbonasi yang menggunakan pemanis alami terdiri dari berbagai bentuk seperti sukrosa, glukosa atau fruktosa. Sedangkan pemanis buatan yang sering dipakai dengan pada minuman ringan berkarbonasi adalah perpaduan asam aspartat dengan fenilalanin yang 200 kali lebih manis dari gula yang disebut aspartam. Dalam minuman ringan berkarbonasi berukuran sedang (250-330 ml) terdapat 40 mg/100 ml kadar aspartam (Wahyuni *et al.*, 2017; Cuomo *et al.*, 2011).
- C. Karbondioksida, biasa digunakan pada minuman ringan berkarbonasi untuk menciptakan rasa yang khas pada lidah dan buih ketika meminumnya karena karbondioksida merupakan gas yang tidak berbau, tidak berwarna, tidak berasa dan tidak beracun. Selain itu karbondioksida juga berfungsi mengawetkan minuman itu sendiri (Cuomo *et al.*, 2011).

- D. Pengawet digunakan untuk mencegah perubahan rasa selama penyimpanan, karena pengawet sangat reaktif dan cepat rusak ketika ditambahkan ke substrat maka jenis yang sering digunakan adalah dimetil dikarbonat (Kragiel *et al.*, 2015).
- E. Bahan asam, selain untuk menghambat dari pertumbuhan mikroorganisme, asam juga ditambahkan dengan tujuan untuk memodifikasi bahan pemanis sehingga rasa yang ditimbulkan tidak membosankan. Bahan yang digunakan dalam minuman ringan berkarbonasi antara lain asam sitrat dengan kadar yang terdapat dalam satu kaleng minuman ringan berkarbonasi berukuran 250-330 ml sekitar 230 mg/100ml, trisodium sitrat sekitar 10mg/ml, asam postat, asam laktat dan asam fofarat (Cuomo *et al.*, 2011).
- F. Kafein, berkisar antara 18 sampai dengan 48,2 mg/saji konsentrasi kafein yang digunakan, sedangkan berkisar antara 40,9 hingga 48,4 mg/16 oz takaran saji yang digunakan pada *fountain* Coca-Cola (Wahyuni *et al.*, 2017).
- G. Bahan Pemberi Aroma (*Flavor*), agar konsumen tidak mudah bosan dalam mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi maka ditambahkan *flavor* dengan kadar sekitar 100 mg/100 ml dalam minuman ringan berkarbonasi berukuran sedang yang digunakan sebagai alternatif dalam memilih minuman berdasarkan kesukaan. Bahan ini disediakan oleh perusahaan minuman dalam bentuk ekstrak alkoholik (rasa anggur, lemon), larutan alkoholik (*strawberry*), emulsi (*vegetable gum* biasanya untuk cola), aroma lemon dan jeruk (*lime*) (Cuomo *et al.*, 2011).

H. Komposisi lain seperti yang digunakan sebagai stabilator dan pengental yaitu hidrokoloid, sebagai antioksidan yang digunakan untuk mencegah kerusakan rasa dan warna agar bisa digunakan dalam jangka waktu yang lama yaitu asam askorbat (Wahyuni *et al.*, 2017).

2.2 Esofagus

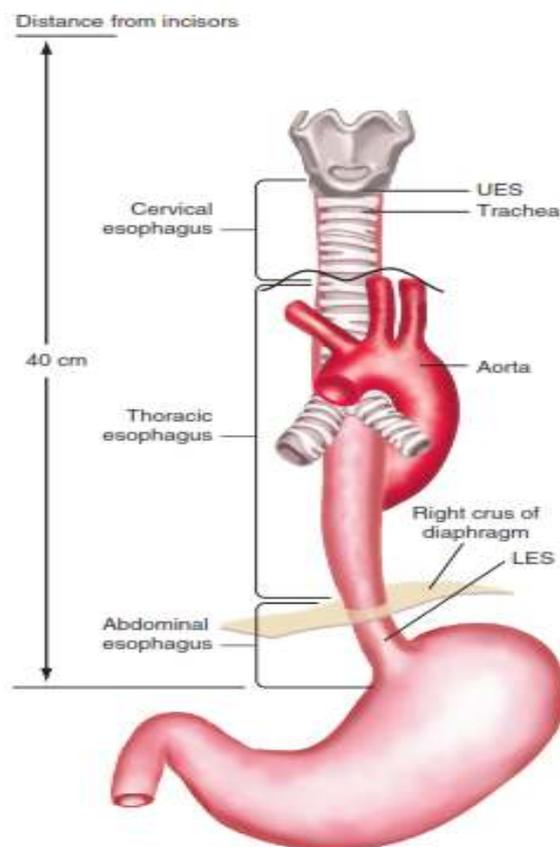
2.2. 1 Anatomi Esofagus

Esofagus terbentang antara faring dan lambung berupa saluran berotot (panjangnya sekitar 25 cm) yang relatif lurus yang berpangkal dari kartilago krikoid dan berujung di cardia lambung. Esofagus sebagian besar terletak di rongga toraks, melewati diafragma dan pada rongga abdomen beberapa sentimeter di bawah diafragma menyatu dengan lambung. Kedua ujung esofagus dijaga oleh dua buah spingter. Spingter adalah struktur otot yang mencegah lewatnya sesuatu melalui saluran yang dijaga dengan cara menutup dan berbentuk seperti cincin. Spingter faringoesofagus merupakan spingter esofagus atas dan spingter gastroesofagus merupakan spingter esofagus bagian bawah (Sherwood, 2015; Paulsen & Waschke, 2013).

Esofagus dengan panjang 25 cm tersusun dalam 3 bagian yaitu *pars cervicalis* yang bersebelahan dengan kolumna vertebralis, *pars thoracica* yang bersebelahan pada sisi kiri bagian dorsal yang melewati arcus aorta dan setelah melewati hiatus diafragma mulai masuk ke *pars abdominalis* yang pendek dan terletak intraperitoneum (Paulsen & Waschke, 2013).

Ketika melintas ke kaudal lewat leher dan mediastinum superius esofagus mengikuti lengkungan columna vertebralis melewati diafragma dan bermuara pada cardia ventriculi, pada bagian distal esofagus dikelilingi oleh *plexus oesophagealis* sedangkan pada bagian ventral dan lateralnya tertutup oleh peritoneum dalam abdomen (Moore *et al.*, 2013).

Terdapat 3 penyempitan pada esofagus normal yaitu pada pertemuan antara faring dan esofagus (Servikal 6), pada persilangan arkus aorta dan bronkus kiri (Torakal 4-5) dan pada hiatus diafragma (Torakal 10) (Witmer, 2007).



Gambar 1. Anatomi Esofagus (Madanick & Orlando, 2016).

Esofagus memiliki tiga konstriksi terdiri dari konstriksi servikal, konstriksi torasik dan konstriksi diafragmatik. Konstriksi servikal mempunyai lumen terkecil dan terletak pada kartilago kriokoid (Vertebra servikal VI) secara klinis disebut sebagai spingter esofagus bagian atas. Konstriksi torasik (Bronko-aortik) merupakan konstriksi yang terjadi karena persilangan langsung arkus aorta dari sinistra dan dorsal (Vertebra torakal IV). Konstriksi diafragmatik terletak dalam hiatus esofagus (Paulsen & Waschke, 2013; Moore *et al.*, 2013).

Berbeda dengan organ lain yang berada dalam traktus gastrointestinal, esofagus tidak memiliki arteri yang khusus namun disuplai oleh pembuluh darah dari organ-organ di sekitarnya sehingga terbagi dari *pars cervicalis* oleh *a. thyroidea inferior*, *pars thoracica* oleh *aorta* serta *Rr. eosophageales* dan *pars abdominalis* oleh *a. gastrica sinistra* dan *a. phrenica inferior*. Sedangkan jaringan vena yang berada pada lapisan adventitia di alirkan ke dalam vena-vena berbeda seperti *pars cervicalis* melalui *v. thyroidea inferior*, *pars thoracica* dan *pars abdominalis* melalui *v. azygos* dan *v. hemiazygos* ke dalam *v. cava superior*. Bagian inferior mendapatkan akses ke sistem vena porta melalui *vena gaster (v. gastrica sinistra)* (Madanick & Orlando, 2016).

2.2.2 Fisiologi Esofagus

Selain sebagai saluran makan, esofagus juga berperan dalam proses menelan. Menelan di mulai ketika gumpalan makanan yang dikunyah telah encer (Bolus) secara sengaja didorong oleh lidah ke belakang

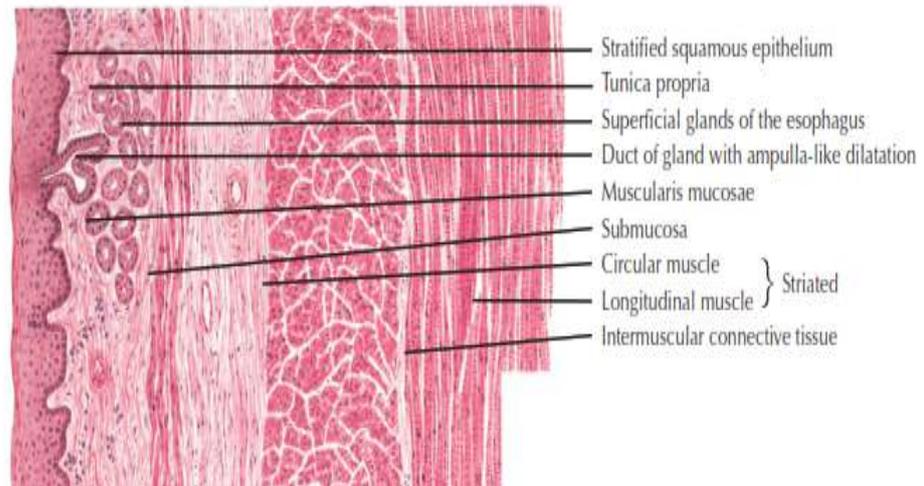
mulut menuju faring. Terdapat 3 fase dalam proses menelan yaitu fase oral (Bucal), fase faringeal dan fase esofageal. Fase oral penelanan di mulai secara volunter, pada awal penelanan lidah menekan bolus ke palatum kemudian lidah mendorong bolus ke faring. Tekanan dari bolus akan merangsang reseptor-reseptor tekanan faring, yang mengirimkan impuls aferen ke medula batang otak yang merupakan pusat menelan. Pusat menelan akan mengaktifkan otot-otot menelan secara reflek sesuai urutan (Tutuian & Castell, 2007).

Fase faringeal dimulai dari pemindahan bolus dari mulut melalui faring ke esofagus. Pusat menelan akan menghambat pusat pernapasan di batang otak, elevasi uvula yang mencegah makanan masuk kembali ke mulut, posisi lidah ke palatum menjaga agar makanan tidak masuk kembali ke mulut, makanan juga akan dicegah masuk ke trakea oleh elevasi laring dan penutupan erat pita suara (Glottis), terakhir epiglotis akan melipat ke belakang menutupi glottis yang telah tertutup sebagai proteksi tambahan agar makanan tidak masuk ke saluran pernapasan. Dengan glottis yang tertutup, otot-otot faring akan mendorong bolus melalui spingter faringoesofagus yang terbuka ke dalam esofagus (Sherwood, 2015).

Pada tahap esofageal, spingter faringoesofageal akan tertutup, struktur-struktur orofaringeal kembali ke posisi istirahatnya, dan pernapasan kembali terjadi. Dengan gerakan peristaltik akan mendorong bolus ke bawah sepanjang esofagus, spingter gastroesofageal akan berelaksasi mendorong bolus ke lambung. Proses menelan telah selesai, sfingter

akan kembali berkontraksi selain itu spingter gastroesofageal juga berfungsi mencegah terjadinya refluks cairan lambung ke esofagus (Sherwood, 2015; Tutuian & Castell, 2007).

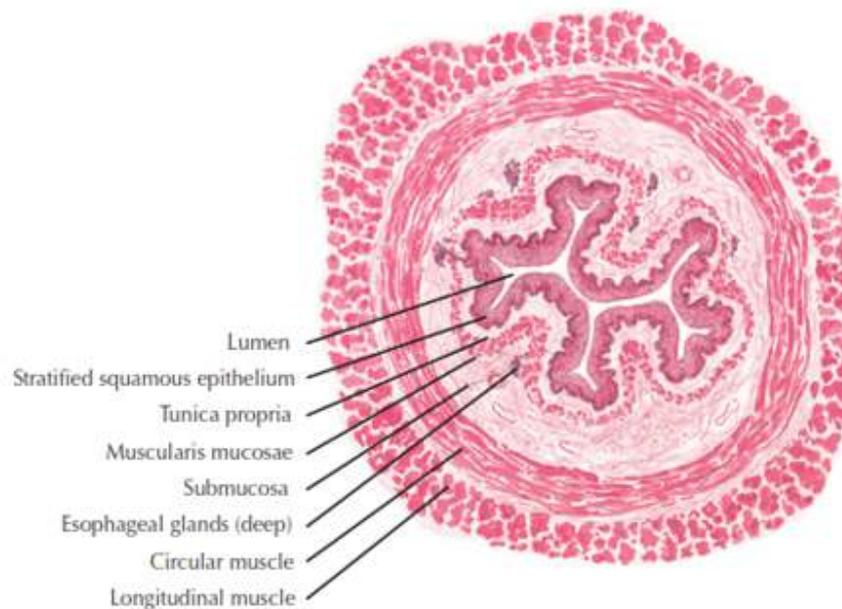
2.2.3 Histologi Esofagus



Gambar 2. Potongan Longitudinal Esofagus Bagian Atas . Pengecatan HE. 25x (Floch, 2010).

Dinding esofagus terdiri dari 4 lapisan dari dalam ke luar yaitu lapisan mukosa, submukosa, lapisan otot dan lapisan fibrosa. Pada lapisan mukosa terdapat epitel skuamosa bertingkat tidak berkeratin. Lapisan submukosa terdapat kelenjar mukus, serabut elastin, serabut kolagen yang tebal dan *plexus Meissner*. Lapisan otot esofagus terdiri dari otot polos dan otot lurik. Otot lurik terdapat pada sepertiga atas esofagus, otot polos terdapat pada sepertiga bawah sedangkan sepertiga tengah terdapat campuran otot polos dan otot lurik. Serat sirkuler untuk otot bagian dalam dan serat longitudinal untuk otot bagian luar (Witmer, 2007).

Pada lapisan mukosa juga secara fungsional dibagi menjadi 3 lapisan yang terdiri dari stratum korneum, stratum spinosum dan stratum germinativum. Lumen pada stratum korneum bertindak sebagai penghalang permeabilitas antaran cairan luminal dan darah oleh lapisan yang kaya sel glikogen dan saling terhubung satu sama lainnya. Lapisan tengah yaitu stratum spinosum mengandung sel-sel aktif metabolik dengan bentuk berduri yang disebabkan oleh desmosom yang banyak untuk menghubungkan sel ke seluruh lapisan yang berguna untuk mempertahankan integritas struktural jaringan. Pada lapisan basal yaitu stratum germinativum mengandung sel kuboid dengan ketebalan 10 - 15% dari ketebalan epitel (Madanick & Orlando, 2016).



Gambar 3. Histologi Esofagus (Floch, 2010).

2.3 Proses Kerusakan Esofagus Akibat Konsumsi Minuman Ringan

Berkabonasi

Minuman ringan berkarbonasi merupakan minuman yang di dalamnya terdapat karbondioksida dan asam seperti asam sitrat dengan kadar yang terdapat dalam satu kaleng minuman ringan berkarbonasi berukuran 250-330 ml sekitar 230 mg/100 ml, trisodium sitrat sekitar 10 mg/ml, asam posfat, asam laktat dan asam fumarat (Cuomo *et al.*, 2011).

Kandungan dalam minuman ringan berkarbonasi juga memiliki aksi proinflamatorik pada jaringan lunak. Iritasi secara langsung dari keasaman dan kandungan gas karbondioksida yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi dapat mengakibatkan perubahan epitel pada tikus karena epitel skuamosa pada esofagus bersifat alkali dan tidak tahan asam dibanding mukosa pada lambung (Orlando, 2011).

Epitel skuamosa berlapis dari esofagus tahan terhadap abrasi makanan, tetapi sensitif terhadap asam. Selain spingter gastroesofageal yang konstan untuk mencegah refluks dari isi asam lambung, lapisan submukosa esofagus juga berkontribusi untuk proteksi mukosa esofagus dengan cara mensekresikan musin dan bikarbonat. Refluks isi lambung ke bagian bawah adalah penyebab tersering esofagitis (Kumar *et al.*, 2017).

Berbeda dengan lambung dan duodenum ketahanan epitelial esofagus tidak begitu kuat karena semua sel epitel pada lambung mensekresi musin lebih banyak dibandingkan esofagus seperti MUC5AC dan MUC6 yang berfungsi

untuk pertahanan melawan asam, MUC2 dan MUC3 berfungsi sebagai pertahanan terhadap garam empedu sedangkan pada sel epitel esofagus tidak mensekresi ke empat musin diatas tetapi terdapat MUC5B yang disekresi oleh kelenjar submukosa esofagus. MUC5B adalah suatu musin yang mudah larut dan bertindak sebagai lubrikan dan tidak dapat melindungi mukosa esofagus. (Setiati *et al.*, 2015; Boeckxstaens, 2007).

Faktor-faktor yang berperan dalam mekanisme bersihan asam dalam esofagus adalah gravitasi, peristaltik, ekresi air liur dan bikarbonat. Dengan gerakan peristaltik yang dirangsang oleh proses menelan setelah refluks sebagian besar bahan refluksat akan kembali ke lambung dan sisanya dinetralisir oleh bikarbonat. Mekanisme ini sangat penting, karena kontak antara bahan refluksat dan esofagus semakin lama akan meningkatkan kemungkinan terjadinya esofagitis (Kleinman, 2008).

Selain itu epitel skuamosa dari esofagus juga memproteksi mukosa esofagus dengan mekanisme pertahan melalui resistensi jaringan. Sebagai fungsi pertahanan resistensi jaringan esofagus mempunyai 3 bagian yang terdiri dari *pre* epitel, epitel dan *post* epitel. *Pre* epitel berfungsi membuat suasana menjadi basa oleh ion bikarbonat tapi lapisan *pre* epitel esofagus relatif lebih lemah dibandingkan pada lambung. Lapisan epitel berfungsi mendistribusikan ion H^+ dari lumen ke *intercellular space* karena pada saat terjadi esofagitis *intercellular* akan berdilatasi akibat peningkatan ion H^+ . Pertahanan pada *post* epitel berupa asam yang berfungsi sebagai *buffer* terhadap efek HCO_3 di dalam sel dan *intercellular space* (Orlando, 2011; Windarti *et al.*, 2015).

Esofagitis dapat terjadi sebagai akibat dari refluks gastroesofageal apabila kontak antara mukosa esofagus dengan bahan refluksat terjadi dalam waktu yang cukup lama atau waktu kontakannya tidak cukup lama tapi telah terjadi penurunan resistensi jaringan mukosa esofagus (Setiati *et al.*, 2015).

Lower esophageal sphincter (LES) merupakan salah satu pertahanan terhadap terjadinya refluks. Untuk memberikan jalan kepada bolus masuk ke lambung pada proses menelan *lower esophageal sphincter* akan berelaksasi selama 3-10 detik dengan tekanan terendah (minimal 2 mmHg di atas tekanan intragastrik). *Lower esophageal sphincter* akan mempertahankan tekanan saat istirahat sebesar 5-10 mmHg lebih tinggi dibandingkan dengan tekanan intragastrik untuk mencegah terjadinya refluks. Disfungsi *lower esophageal sphincter* akan menyebabkan kemampuan sfingter dalam mengatur tekanan terganggu, sehingga lebih mudah terjadi refluks (Hegar & Mulyani, 2006).

Refluks gastroesofageal akan menyebabkan kerusakan pada esofagus bila isi refluks bersifat menimbulkan iritasi (Kaustik) terhadap mukosa esofagus. Asam, pepsin, empedu dan enzim pankreas (Tripsin, lipase) merupakan isi lambung yang berpotensi sebagai kaustik. Pada pH rendah atau suasana asam ion H^+ merupakan penyebab kerusakan mukosa esofagus yang sangat bergantung kepada konsentrasi (pH) dan lama paparan. Bila pH lumen esofagus <2 atau terdapat pepsin, empedu di dalam isi refluks akan mengakibatkan kerusakan mukosa esofagus (Esofagitis) yang berat, sedangkan esofagitis ringan-sedang apabila yang menyebabkannya refluks asam atau empedu saja (Hegar & Mulyani, 2006).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus (*Rattus sp*) termasuk binatang pengerat ternasuk hama yang merugikan bagi penati, selain itu hewan ini juga membahayakan kehidupan manusia. Seperti wabah pes dan leptospirosis yang dibawa dan ditularkan oleh hewan ini. Di alam tikus ini hidup secara berkelompok sekitar 200 ekor dalam satu kelompok, mereka biasa dijumpai dalam sebuah lubang di perkebunan kelapa, selokan dan padang rumput. Perkembangbiakan tikus sangat luar biasa, sekali beranak tikus dapat melahirkan rata-rata sekitar 9 ekor sampai 15 ekor (Akbar, 2010).

Klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Odontoceti
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*

Tikus putih yang digunakan untuk percobaan laboratorium yang dikenal ada tiga macam galur yaitu *Sprague dawley*, *Long evans* dan *Wistar*. Seorang ahli kimia dari Universitas Winconsin bernama Dawley, menemukan tikus putih tersebut sehingga penamaan tikus galur ini dikombinasikan dengan nama pertama dari istri pertamanya yaitu Sprague dan namanya sendiri

menjadi Sprague Dawley demikian dinamakan tikus galur *Sprague dawley* (Akbar, 2010).



Gambar 4. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* (Akbar, 2010).

Tabel 1. Ciri- Ciri Morfologi dari *Rattus norvegicus*

Ciri	<i>Rattus norvegicus</i>
Berat	150-600 gram
Kepala dan badan	Hidung tumpul, badan besar, pendek, 18-25 cm
Ekor	Lebih pendek dari kepala + badan, sebagian atas lebih tua dan warna muda pada bagian bawahnya dengan rambut pendek kaku 16-21 cm
Telinga	Relatif kecil, setengah tertutup bulu, jarang lebih dari 20-23 mm
Bulu	Bagian punggung abu-abu kecoklatan, keabu-abuan pada bagian perut

Sumber: (Depkes, 2008).

Tikus sebagai hewan coba sangat banyak digunakan dalam penelitian karena terdapat organisasi DNA dan ekspresi gen yang sama dengan manusia. Selain itu tikus juga sering digunakan sebagai pengembangan pengobatan penyakit manusia karena sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit (Kanker, diabetes) dan bahkan kecemasan memiliki kesamaan dengan manusia. Pada sistem respirasi tikus, tikus bernapas melalui hidung dan tingkat respirasi meningkatkan bila terjadi peningkatan suhu. Pada saat suhu dingin untuk

meminimalkan kehilangan panas tikus akan meringkuk dan menyembunyikan ekornya, sedangkan pada saat suhu panas tikus akan mengalami proses pendinginan suhu tubuh yang terjadi pada pembuluh darah dalam telinga dan ekor (Susan, 2016).

Tabel 2. Perkembangbiakan dari *Rattus norvegicus*

Kategori Perkembangbiakan	<i>Rattus norvegicus</i>
Umur dewasa	75 hari
Masa bunting	22-24 hari
Rata-rata jumlah tikus yang bunting (%)	0,7-34,8
Jumlah embrio rata-rata	8,8
Per tikus betina	7,9-9,9
Adanya kebuntingan	4,32
Produksi/betina/tahun	38
Jumlah penelitian	15

Sumber: (Depkes, 2008).

Tikus putih sebagai hewan uji penelitian memiliki beberapa sifat yang menguntungkan diantaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak, kemampuan laktasi tinggi dan temperamennya baik (Akbar, 2010).

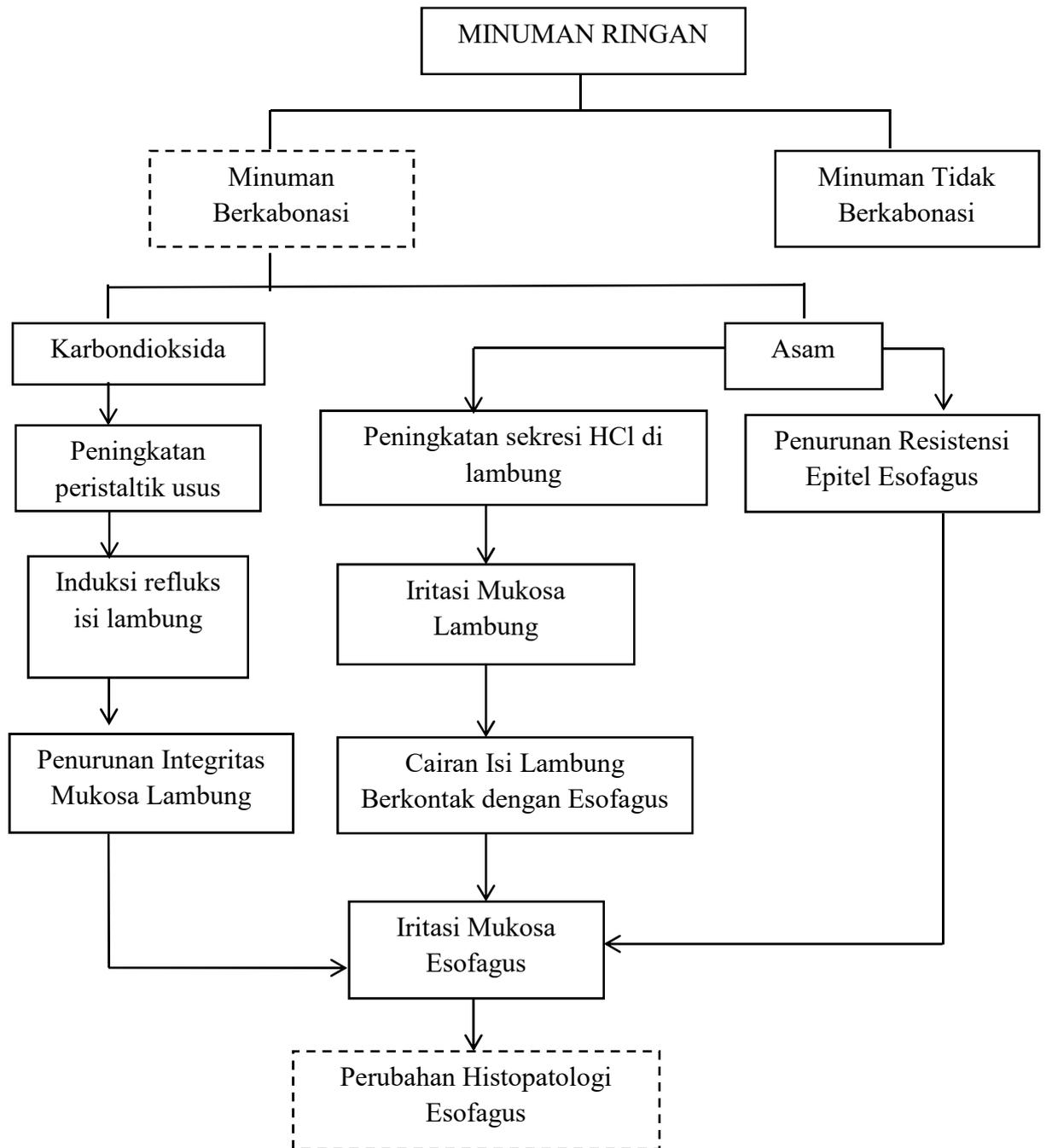
2.5 Kerangka Teori

Minuman ringan berkarbonasi atau minuman berkarbonasi merupakan minuman yang tampak bergelembung akibat dari injeksi gas karbondioksida ke dalam minuman tersebut (Fikawati *et al.*, 2017). Pemberian minuman ringan berkarbonasi secara terus menerus dan berlangsung lama dapat menyebabkan peradangan serta iritasi pada mukosa esofagus karena kandungan asam dan gas karbondioksida yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi (Wahyuni *et al.*, 2017).

Iritasi secara langsung dari keasaman dan kandungan gas karbondioksida yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi dapat mengakibatkan perubahan epitel pada tikus karena epitel skuamosa pada esofagus bersifat alkali dan tidak tahan asam (Orlando, 2011). Epitel skuamosa berlapis dari esofagus tahan terhadap abrasi makanan, tetapi sensitif terhadap asam (Kumar *et al.*, 2017). Pada sel epitel esofagus hanya mensekresikan MUC5B yaitu suatu musin yang mudah larut dan bertindak sebagai pelumasan dan tidak dapat melindungi mukosa esofagus (Setiati *et al.*, 2015).

Pada pH rendah atau suasana asam ion H^+ merupakan penyebab kerusakan mukosa esofagus yang sangat bergantung kepada konsentrasi (pH). Bila pH lumen esofagus <2 atau terdapat pepsin, empedu di dalam isi refluks akan mengakibatkan kerusakan mukosa esofagus (Hegar & Mulyani, 2006). Kontak antara bahan refluksat dan esofagus semakin lama akan meningkatkan kemungkinan terjadinya esofagitis (Kleinman, 2008).

Iritasi pada mukosa esofagus dapat dibuktikan melalui pengamatan menggunakan mikroskop terhadap gambaran perubahan histopatologi berupa regenerasi epitel yang menunjukkan tanda-tanda hiperplasia, hiperkeratosis, akantosis dan terdapat sel eosinofil, neutrofil, dan limfosit akibat reaksi inflamasi yang terus-menerus terjadi pada tikus yang diberi minuman ringan berkarbonasi (Wahyuni *et al.*, 2017).



Gambar 5. Kerangka Teori Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi Terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus

Keterangan

[- - -] : Yang diteliti

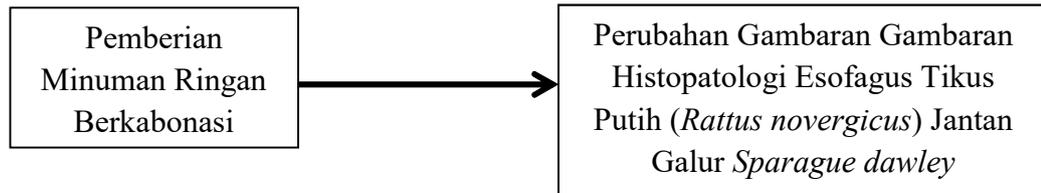
↓ : mengakibatkan

2.6 Kerangka Konsep

Berikut ini adalah kerangka konsep dari penelitian yang berjudul pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan frekuensi berbeda terhadap esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*

Variabel Bebas

Variabel Terikat



Gambar 6. Kerangka Konsep Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi Terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus

2.7 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain penelitian *post test only controlled group design*, yang menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* dewasa berumur 8-10 minggu sebanyak 24 ekor yang dipilih secara acak (*random sampling*) kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 sebagai kelompok kontrol dan 3 lainnya sebagai kelompok perlakuan. Perlakuan berupa pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan frekuensi berbeda.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Tempat

Penelitian akan dilakukan di *Animal House* Fakultas kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemberian Intervensi kepada hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas kedokteran Universitas Lampung. Sedangkan untuk pembuatan preparat hepar hewan coba dan

pemeriksaan histopatologi akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.2.3 Waktu

Penelitian ini akan dilakukan kurang lebih selama 3 bulan (Agustus – November 2018)

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 8–10 minggu (dewasa) dengan berat antara 200-250 gram yang diperoleh dari Palembang Tikus Center (PTC).

3.3.2 Sampel Penelitian

Jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan 24 tikus putih yang di bagi menjadi 4 kelompok, ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer sesuai dengan jenis penelitian yang dilakukan, yaitu penelitian eksperimental. Rumus Frederer dalam penentuan besar sampel untuk uji eksperimental yakni

$$t(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah sampel tiap kelompok

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, maka besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5 \text{ (Pembulatan)}$$

Berdasarkan prinsip penelitian *reduction*, maka jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah jumlah minimal berdasarkan perhitungan di atas, yaitu sebanyak 5 ekor untuk setiap kelompok perlakuan, karena penelitian ini menggunakan 4 kelompok sampel maka total sampel sebanyak sebanyak 20 ekor tikus putih. Untuk mengantisipasi *drop out* maka dilakukan penambahan sampel dengan rumus :

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan :

N : Besar sampel koreksi

n : Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f : Perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Supranto, 2009).

Maka jumlah sampel koreksi yang ditambahkan pada penelitian ini yaitu :

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

$$N = \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,56$$

$$N = 6 \text{ (Pembulatan)}$$

Jadi, keseluruhan sampel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah 20 ekor tikus ditambah 4 ekor tikus putih sebagai sampel koreksi sehingga total sebanyak 24 tikus yang dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan (Federer, 1977).

3.3.3 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
2. Sehat (tidak ada penyakit maupun kelainan anatomis)
3. Jenis kelamin jantan
4. Berumur 8-10 minggu
5. Berat badan 200-250 gram
6. Diperoleh dari tempat biakan yang sama

3.3.4 Kriteria Eksklusi

1. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
2. Tikus mati selama masa penelitian

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01g untuk menimbang berat tikus
2. Kandang tikus
3. Botol minum tikus
4. Tempat makan tikus
5. Sonde lambung
6. Minor set
7. Sduit
8. Kapas Alkohol
9. Mikroskop cahaya
10. Laptop

3.4.2 Bahan penelitian

Adapun bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley*
2. Air/akuades
3. Minuman ringan berkarbonasi merek Coca cola®

4. Pelet sebagai makanan tikus
5. Kloroform

3.4.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histologi

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi adalah

1. *Object glass*
2. *Deck glass*
3. *Tissue cassette*
4. *Rotary microtome*
5. *Oven*
6. *Waterbath*
7. *Platening table*
8. *Autotechnicome processor*
9. *Staining jar*
10. *Staining rack*
11. *Kertas saring,*
12. *Histoplast*
13. *Paraffin dispenser*

3.4.4 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi yaitu

1. Larutan formalin 10% untuk fiksasi
2. Alkohol 70%
3. Alkohol 96
4. Alkohol absolut

5. Etanol
6. Xylol
7. Pewarna Hematoksisilin
8. Eosin (H & E)
9. Entelan

3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.5.1 Identifikasi Variabel

Terdapat dua variabel pada penelitian ini yaitu variabel bebas (*independent* variabel) dan variabel terikat (*dependent* variabel)

3.5.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian minuman ringan berkarbonasi menggunakan sonde per oral.

3.5.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan gambaran histopatologi mukosa esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel penelitian ini yaitu:

A. Variabel Bebas (Pemberian Minuman ringan berkarbonasi)

1) Definisi

Pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan merek Coca-cola®.

2) Alat Ukur

Gelas ukur, spuit 10 cc dan sonde.

3) Hasil Ukur

Pemberian minuman ringan berkarbonasi merek Coca-cola 3x/hari dengan dosis 1 ml, 2 ml, dan 4 ml per pemberian ke tikus putih jantan galur *Sprague dawley*.

4) Skala Ukur : Ordinal.

B. Variabel Terikat (Gambaran Histopatologi Mukosa Esofagus)

1) Definisi

Gambaran mikroskopis esofagus tikus putih jantan yang diamati di bawah mikroskop cahaya menggunakan pembesaran 400x dengan menilai derajat kerusakan mukosa esofagus yang paling tinggi

2) Alat Ukur

Mikroskop Cahaya dengan pembesaran 400x dalam lima lapang pandang berdasarkan ada tidaknya kerusakan jaringan epitel mukosa esofagus yang ditandai dengan adanya deskuamasi, celah epitel, dan erosi tiap lapang pandang kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan.

3) Hasil Ukur

Penilaian kerusakan mukosa esofagus dilihat dengan sistem skor integritas mukosa berdasarkan modifikasi Barthel Manja (Kumar *et al.*, 2017), dengan skor sebagai berikut:

- a) Skor 0 yaitu normal, tidak terdapat perubahan patologis.
 - b) Skor 1 yaitu terdapat deskuamasi epitel berupa kerusakan ringan epitel tanda adanya celah.
 - c) Skor 2 yaitu terdapat erosi permukaan epitel berupa celah (1-10 sel epitel / lesi).
 - d) Skor 3 yaitu terdapat ulserasi ditandai dengan adanya gap > 10 sel epitel / lesi, dan biasanya terdapat jaringan granulasi dibawah epitel.
- 4) Skala Ukur : Numerik.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pemilihan Minuman Ringan Berkabonasi

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh *nusaresearch team* pada tahun 2014 mengenai kebiasaan orang Indonesia dalam mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi didapatkan bahwa 30,7% dari responden mengatakan setidaknya 2-3 kali mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi dalam seminggu dan 18,5% responden mengatakan mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi lebih dari 3 kali dalam seminggu dan minuman ringan berkarbonasi yang paling banyak dikonsumsi oleh responden terdiri dari Coca-cola (99,4%), Fanta (98,7%) dan Sprite (97,5%). Pemilihan minuman ringan berkarbonasi juga mempertimbangkan tingkat keasaman (pH) dari minuman ringan berkarbonasi. Menurut Johnson *et al* Coca-cola memiliki tingkat

keasaman (pH) yang paling asam yaitu 2,4 (Nusaresearch team, 2014; Johnson *et al.*, 2010).

3.6.2 Perhitungan Dosis

Penentuan dosis berdasarkan dosis manusia dengan berat badan 70 kg dikonversikan kepada tikus (berat badan 20 g) menggunakan tabel Konversi Laurence-Bacharach (1964) dengan faktor konversi 0,018. Jika dosis minuman berkarbonasi dalam satu botol adalah 330 ml pada manusia yang diperkirakan di konsumsi, maka konversi dosis minuman berkarbonasi yang diberikan pada tikus adalah $=0,018 \times 330 \text{ ml}/200\text{g}/\text{hari} = 5,94 \text{ ml}/200\text{g}/\text{hari}$ (pembulatan menjadi 6 ml/200g/hari).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh El-Tahan dan Ahmed mengenai efek histologi dan biokimia pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* selama 30 hari didapatkan perubahan histopatologi esofagus dengan pemberian dosis sebesar 6 ml/hari selama 30 hari (El-Tahan & Ahmed, 2015).

Berdasarkan penelitian dan konversi dosis diatas, peneliti menggunakan dosis 6 ml/200g/hari sebagai dosis toksik dengan penyesuaian dosis sesuai dengan kesepakatan umum terbagi dalam 3 ml, 6 ml, dan 12 ml yang dibagi dalam tiga dosis/hari.

3.6.3 Adaptasi Hewan Percobaan

Tikus yang telah diambil dari Palembang Tikus Center (PTC) dimasukkan ke dalam 4 kandang berbeda sesuai dengan kelompok perlakuan yang berlokasi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tikus di adaptasikan pada lingkungan barunya selama satu minggu sebelum intervensi dilakukan. Penimbangan badan dilakukan sebelum intervensi dimulai. Tikus diberi makanan dan minuman berupa pelet dan air selama 1 minggu ini. Kandang akan dibersihkan dari kotoran setiap minggu.

3.6.4 Pemberian Minuman Ringan Berkabonasi Tikus

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan, adapun keempat kelompok tikus ini terdiri dari:

1. Kelompok K digunakan sebagai kelompok kontrol. Kelompok tikus putih ini hanya diberi pakan standar dengan pemberian akuades secara *ad libitum*.
2. Kelompok P1 adalah kelompok perlakuan 1 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minuman ringan berkarbonasi merek Coca-cola® yang diberikan melalui sonde oral dengan dosis 3 ml/200gr/hari dengan dosis terbagi tiga dalam sehari menjadi 1 ml/pemberian pada pagi hari jam 07.00–08.00 WIB, siang jam 12.00–13.00 WIB, dan sore hari jam 17.00–18.00 WIB selama 30 hari berturut-turut.
3. Kelompok P2 adalah kelompok perlakuan 2 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minuman ringan berkarbonasi merek Coca-

cola® yang diberikan melalui sonde oral dengan dosis 6 ml/200gr/hari dengan dosis terbagi tiga dalam sehari menjadi 2 ml/pemberian pada pagi hari jam 07.00–08.00 WIB, siang jam 12.00–13.00 WIB, dan sore hari jam 17.00–18.00 WIB selama 30 hari berturut-turut.

4. Kelompok P3 adalah kelompok perlakuan 3 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minuman ringan berkarbonasi merek Coca-cola® yang diberikan melalui sonde oral dengan dosis 12 ml/200gr/hari dengan dosis terbagi tiga dalam sehari menjadi 4 ml/pemberian pada pagi hari jam 07.00–08.00 WIB, siang jam 12.00–13.00 WIB, dan sore hari jam 17.00–18.00 WIB selama 30 hari berturut-turut.

3.6.5 Prosedur Operasional Pembuatan Preprat

Metode teknik pembuatan preparat histopatologi antara lain sebagai berikut:

1. *Fixation*

Spesimen berupa potongan esofagus yang telah dipotong secara representatif segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam lalu dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

2. *Trimming*

Organ esofagus dicecilkan hingga berukuran kurang lebih 3mm, potongan tersebut kemudian dimasukkan ke *tissue cassette*.

3. *Dehidrasi*

Meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu untuk dikeringkan. Lalu lakukan dehidrasi dengan :

- A. Alkohol 70% selama 0,5 jam
- B. Alkohol 96% selama 0,5 jam
- C. Alkohol 96% selama 0,5 jam
- D. Alkohol 96% selama 0,5 jam
- E. Alkohol absolut selama 1 jam
- F. Alkohol absolut selama 1 jam
- G. Alkohol absolut selama 1 jam
- H. Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam

4. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing–masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Lakukan Impregnasi dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65⁰ C.

6. *Embedding*

- A. Membersihkan sisa paraffin yang ada pada pan dengan memanaskan beberapa saat di atas api lalu diusap dengan kapas.
- B. Memasukkan paraffin cair disiapkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58⁰ C.
- C. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.

D. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Lalu pan dimasukkan ke air.

E. Paraffin yang berisi potongan mata dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6⁰ C beberapa saat.

F. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.

G. Potong dengan mikrotom

7. *Cutting*

Pemotongan dilakukan di ruangan dingin. Pertama lakukan pemotongan kasar lalu lanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron dengan menggunakan *rotary microtome*. Pilih lembaran yang paling baik, apungkan di atas air lalu hilangkan kerutannya. Lembaran jaringan kemudian dipindahkan ke *water bath* dengan suhu 60^o C selama beberapa saat sampai mengembang sempurna. Lalu lembaran diambil dengan slide bersih dengan gerakan menyendok. Slide ini kemudian diletakkan di inkubator suhu 37^o C sampai jaringan melekat semua kira-kira selama 24 jam.

8. *Staining* (pewarnaan) dengan Harris Hematoksilin–Eosin.

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut.

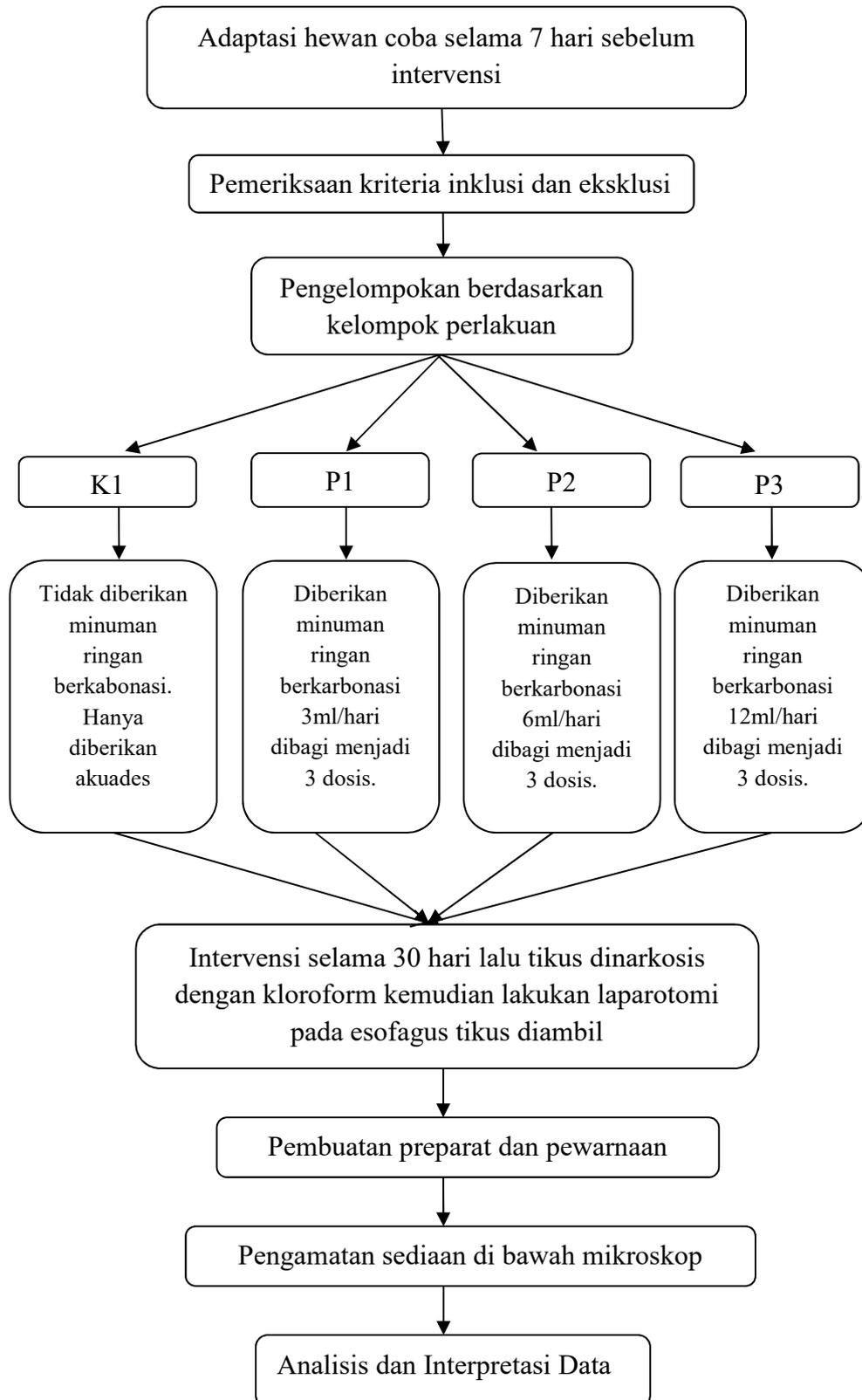
- A. Dilakukan *deparaffinisasi* dalam:
 - 1) Larutan *xylol* I selama 5 menit
 - 2) Larutan *xylol* II selama 5 menit
 - 3) Ethanol absolut selama 1 jam
 - B. Hydrasi dalam:
 - 1) Alkohol 96% selama 2 menit
 - 2) Alkohol 70% selama 2 menit
 - 3) Air selama 10 menit
 - C. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - 1) Haris hematoksilin selama 15 menit
 - 2) Air mengalir
 - 3) Eosin selama maksimal 1 menit
 - D. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
 - 1) Alkohol 70% selama 2 menit
 - 2) Alkohol 96% selama 2 menit
 - 3) Alkohol absolut 2 menit
 - E. Penjernihan:
 - 1) *Xylol* I selama 2 menit
 - 2) *Xylol* II selama 2 menit
9. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*
- Setelah proses pewarnaan, slide ditempatkan di atas kertas tisu lalu ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, perhatikan jangan sampai terbentuk gelembung udara.

10. Pembacaan Slide

Proses pembacaan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dengan bimbingan dosen pembimbing dan ahli patologi anatomi

3.6. 6 Alur Penelitian

Adapun alur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Alur Penelitian Pengaruh Pemberian Minum Ringan Berkarbonasi Terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus.

3.7 Analisis Data

Setelah data diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop maka selanjutnya data tersebut di uji dan di analisis dengan menggunakan program computer yaitu SPSS. Selanjutnya hasil penelitian di analisis apabila didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one way* ANOVA. Namun bila tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik, pengujian akan menggunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*.

Untuk menganalisis apakah data terdistribusi normal atau tidak secara statistik dilakukan uji normalitas. Untuk mengukur normalitas, uji yang bisa dilakukan yaitu uji *Kolmogorov-Smirnov* atau *Shapiro-Wilk*. Karena pada penelitian ini jumlah sampel ≤ 50 maka uji yang dilakukan adalah uji *Saphiro wilk*.

Setelah uji normalitas data, untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak maka dilakukan uji Levene. Hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$ atau menolak H_0 . Selanjutnya dilakukan analisis *Post-Hoc Least Significant Differences (LSD)* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan (Dahlan MS, 2014).

3.8 Ethical Clearance

Peneliti akan memperhatikan kesejahteraan hewan coba dengan memperlakukan hewan coba secara baik sesuai prinsip 3R yaitu *replacement*, *reduction*, dan *reframent*. Penelitian ini mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unila dengan nomor 5203/UN26.18/PP.05.02.00/2018.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

5.2 Saran

1. Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan minuman ringan jenis lain dengan dosis yang berbeda.
2. Peneliti lain disarankan melakukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan-bahan atau zat yang bisa meminimalisir efek dari minuman ringan berkarbonasi.
3. Peneliti lain disarankan melakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur nilai tingkat keasaman yang terdapat pada minuman ringan berkarbonasi.
4. Peneliti lain disarankan melakukan penelitian yang lebih lanjut menggunakan organ yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. Tumbuhan dengan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan anti fertilitas. Edisi ke-1. Jakarta: Penerbit Adabia Press.
- Andersson O. 2009. Laryngopharyngeal reflux development and refinement of diagnostic tools [tesis]. Sweden: University of Gotheburg.
- Berawi KN. 2017. Konsumsi soft drink dan efeknya terhadap peningkatan risiko terjadinya osteoporosis. *Majority*. 6(2): 21–5.
- Boeckxstaens GEE. 2007. Review article: the pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 26(2): 149–60.
- Cuomo R, Sarnelli G, Savarese M, Buyckx M. 2009. Carbonated beverages and gastrointestinal system: between myth and reality. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 19(10): 683–9.
- Cuomo R, Savarese M, Sarnelli G, Nicolai E, Aragri A, Cirillo C *et al*. 2011. The role of a pre-load beverage on gastric volume and food intake: comparison between non-caloric carbonated and non-carbonated beverage. *Nutrition Journal*. 10(1): 114.
- Dahlan MS. 2014. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi ke-6. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Depkes. 2008. Pedoman pengendalian tikus khusus di rumah sakit. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- El-Tahan NR, Ahmed RA. 2015. Histological and biological effects of soft drinks

on male albino rats. *JBAAR* 1(6): 335-42.

Federer WT. 1977. *Experimental design theory and application*. Edisi ke-3. New Delhi: Oxford dan IBH Publishing Co.

Fikawati S, Syafiq A, Veratamala A. 2017. *Gizi anak dan remaja*. Edisi ke-1. Depok: Rajawali Pers.

Floch NR. 2010. *Histology of the esophagus*. Edisi ke-2. Netters Gastroenterology: Elsevier.

Giriwono P, Andarwulan N, Rimbawan, Muchtadi D. 2014. Consumption of carbonated beverages and the risk for gastrointestinal disease: a systematic review. *Panel Gizi Makan*. 37(1): 69–76.

Hegar B, Mulyani RL. 2006. Esofagitis refluks pada anak. *Sari Pediatri*. 8(1): 43–53.

Johnson T, Gerson L, Hershovici T, Stave C, Fass R. 2010. Systematic review: The effects of carbonated beverages on gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 31(6): 607–14.

Kapicioglu S, Baki A, Reis A, Tekelioglu Y. 1999. Cola drinks consumption and oesophagitis. *Dis Esophagus*. 12(4): 306–8.

Kleinman RE. 2008. Protection of the gastrointestinal tract epithelium against damage from low pH beverages. *Journal of Food Science*. 73(7): 99-105.

Kregiel D. 2015. Health safety of soft drinks: contents, containers, and microorganisms. *BioMed Research International*. [diunduh pada 23 Juli 2018]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Kumar V, Abbas A, Aster J. 2017. *Robbins basic pathology*. Edisi ke-10. Philadelphia: Elsevier.

Madanick R, Orlando R. 2016. Anatomy, histology, embryology, and developmental anomalies of the esophagus. Dalam: *Sleisenger and*

fordtran's gastrointestinal and liver disease. Philadelphia: Elsevier. hlm. 689–700.

Meiriasari, Mulyani EY. 2014. Hubungan antara faktor individu, faktor lingkungan dan frekuensi konsumsi minuman bersoda pada siswa-siwi smpn 38 Bekasi tahun 2013. *Nutrire Diaita*. 5(2): 81–93.

Meyer W, Schoennagel B, Kacza J, Busche R, Hornickel IN, Trautwein MH *et al*. 2014. Keratinization of the esophageal epithelium of domesticated mammals. *Acta Histochemica*. 116(1): 235–42.

Moore KL, Dalley AF, Agus AMR. 2013. *Clinically oriented anatomy*. Edisi ke-7. Baltimore: LWW.

Muthmainnah. 2012. Faktor-faktor yang mempengaruhi konsumsi minuman ringan berkarbonasi pada mahasiswa program studi administrasi bisnis pnj 2009 [skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.

Ndraha S. 2014. Penyakit refluks gastroesofageal. *Medicinus*. 27(1): 5-7.

Nusaresearch team. 2014. Report of minuman ringan berkarbonasi consumption in Indonesia. [diunduh 30 desember 2017]. Tersedia dari: <http://nusaresearch.com>.

Oliveira TD, Degaspar ME, Menezes L, Braga V, Rodrigues JM, Nogueira R *et al*. 2017. Effects of gaseous drinks in wistar rats esophagus. *Journal of Biosciences and Medicines*. 5: 32–43.

Orlando RC. 2011. The integrity of the esophageal mucosa balance between offensive and defensive mechanism. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 24(6): 873-82.

Pang J, Borjeson TM, Muthupalani S, Ducore R, Health O. 2014. Megaesophagus in a line of transgenic rats : a model of achalasia. *Veterinary Pathology*. 51(6): 1187–1200.

Paulsen F, Waschke J. 2014. *Sobotta atlas der anatome des menschen*. Edisi ke-

23. Munich: Elsevier.

Price SA, Wilson LM. 2002. Pathophysiology: clinical concepts of disease processes. Edisi ke-6. Philadelphia: Saunders Elsevier.

Sari ND, Suharto G, Margawati A. 2012. Pengaruh formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis esofagus tikus wistar. *Media Medika Muda*.

Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simandibrata M, Setiyohadi B, Syam AF. 2015. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-VI. Jakarta: Interna Publishing.

Sherwood L. 2015. Human physiology: From cell to system. Edisi ke-9. New York: Brooks Cole.

Supranto J. 2009. Statistik teori dan aplikasi. Edisi ke-7. Jakarta: Erlangga.

Susan MN. 2016. Penggunaan dan penanganan hewan coba rodensia dalam penelitian sesuai dengan kesejahteraan hewan. Edisi ke-59. Perpustakaan Nasional: Katalog Dalam Terbitan (KDT).

Tania M. 2016. Perilaku konsumsi minuman ringan di SMKN 2 Balendah Bandung. *Jurnal Ilmu Keperawatan*. IV(1): 19–25.

Tong P, Zhang G, Zhang X, Yan XIA, Wang J. 2013. Effects of sterigmatocystin on esophageal epithelium and experimental reflux esophagitis in rats. *Molecular Medicine Reports*. 8: 1043–8.

Tutuian R, Castell DO. 2007. Physiology of the esophagus and its sphincters. Dalam: Shackelford's surgery of the alimentary tract. Philadelphia: Elsevier Inc.

Wahyuni R, Istiadi H, Utami AW. 2017. Pengaruh ekstrak daun kersen (*muntingia calabura* l) terhadap integritas mukosa esofagus tikus wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 6(2): 1156–65.

- Wang DH. 2017. The esophageal squamous epithelial cell still a reasonable candidate for the barretts esophagus cell of origin-cellular. *Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 4: 157–60.
- Windarti I, Muhartono, Widayana IGE. 2015. Pengaruh herbisida paraquat dichlorida oral terhadap derajat kerusakan pada esofagus tikus. *Juke Unila*. 5(9): 9–12.
- Witmer LM. 2007. Clinical anatomy and histology of the upper gastrointestinal system. [diunduh 31 desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.oucom.ohiou.edu/dbmswitmer/gs-rpac.htm>.
- Yang L, Cai H, Tou J, Gu W, Shu X, Zhang T *et al*. 2012. The role of the 5-hydroxytryptamine pathway in reflux-induced esophageal mucosal injury in rats. *World Journal Of Surgical Oncology*. 10: 219.